

# 金属 - 酚表面化学应用于可降解聚三亚甲基碳酸酯改性构建一氧化氮催化释放涂层

王茜<sup>1</sup>, 杨志禄<sup>2\*</sup>, 黄楠<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>西南交通大学生命科学与工程学院, 四川 成都

<sup>2</sup>西南交通大学材料科学与工程学院, 材料先进技术教育部重点实验室, 四川 成都

Email: \*zhiluyang1029@swjtu.edu.cn, \*huangnan1956@163.com

收稿日期: 2021年3月17日; 录用日期: 2021年4月20日; 发布日期: 2021年4月27日

## 摘要

聚三亚甲基碳酸酯(PTMC)因其具有表面溶蚀性特点、良好的生物相容性以及药物缓释性在可降解植入器械如血管支架表面改性上表现出广阔的应用前景。基于金属 - 酚表面化学构建的一氧化氮(NO)催化释放功能涂层已经被证实应用血管支架表面改性具有抗凝血、抑制平滑肌细胞增殖和促进内皮再生等多重生物学功能。然而, 该NO催化释放涂层能否应用于可降解PTMC材料表面改性还未有过报道。因此, 本研究采用旋涂的方法在支架材料表面首先制备PTMC涂层, 随后基于金属 - 酚表面化学, 利用没食子酸(gallic acid, GA)和硒代胱胺(selenocystamine, SeCA)共价结合形成网络结构, 以Cu<sup>2+</sup>作为交联剂将上述网络结构进行交联, 探究PTMC涂层表面构建具有Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA网络结构的NO催化涂层。研究结果证明, 得益于GA多酚具有的广谱材料粘附特性, 在PTMC涂层表面成功地构建了Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA涂层, 且实现了NO催化释放速率在2~6.2 × 10<sup>-10</sup> mol × cm<sup>-2</sup> × min<sup>-1</sup>之间可调控。催化释放的NO通过特异性上调血小板环磷酸鸟苷(cGMP)表达抑制血小板的粘附与激活, 证实了基于金属 - 酚表面化学的NO-催化释放涂层能应用于可降解聚合物涂层表面改性。

## 关键词

一氧化氮, 表面化学, 血液相容性, 聚三亚甲基碳酸酯

## Metal-Phenolic-(Amine) Surface Chemistry for Generating Nitric Oxide on Biodegradable Polymer Matrix Vascular Stent Coating

Qian Wang<sup>1</sup>, Zhilu Yang<sup>2\*</sup>, Nan Huang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu Sichuan

\*通讯作者。

文章引用: 王茜, 杨志禄, 黄楠. 金属 - 酚表面化学应用于可降解聚三亚甲基碳酸酯改性构建一氧化氮催化释放涂层[J]. 材料科学, 2021, 11(4): 417-426. DOI: 10.12677/ms.2021.114050

<sup>2</sup>Key Laboratory of Advanced Technologies of Materials, Ministry of Education, School of Materials Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu Sichuan  
Email: \*zhiluyang1029@swjtu.edu.cn, \*huangnan1956@163.com

Received: Mar. 17<sup>th</sup>, 2021; accepted: Apr. 20<sup>th</sup>, 2021; published: Apr. 27<sup>th</sup>, 2021

## Abstract

Polytrimethylene carbonate (PTMC) shows broad application prospects in surface modification of degradable implantable devices such as vascular stents due to its surface erosion characteristics, good biocompatibility and drug slow release. The functional coating for the catalytic release of nitric oxide (NO) based on metal-phenol surface chemistry has been proven to have multiple biological functions such as anticoagulation, inhibition of smooth muscle cell proliferation, and promotion of endothelial regeneration by surface modification of vascular stents. However, it has not been reported whether the NO catalytic release coating can be applied to the surface modification of degradable PTMC materials. Therefore, in this study, the spin coating method was used to first prepare the PTMC coating on the surface of the stent material, and then based on the metal-phenol surface chemistry, the use of gallic acid (GA) and selenocystamine (SeCA) covalently combined to form network structure, using  $\text{Cu}^{2+}$  as a cross-linking agent to cross-link the above-mentioned network structure, and explore the construction of a NO catalytic coating with  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA network structure on the surface of the PTMC coating. The research results prove that, thanks to the broad-spectrum material adhesion characteristics of GA polyphenols,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA coatings were successfully constructed on the surface of PTMC coatings, and the NO catalytic release rate was adjusted between  $2\sim 6.2 \times 10^{-10} \text{ mol} \times \text{cm}^{-2} \times \text{min}^{-1}$ . Catalytic release of NO inhibits platelet adhesion and activation by specifically up-regulating the expression of platelet cyclic guanosine phosphate (cGMP), confirming that the NO-catalytic release coating based on metal-phenolic-(amine) surface chemistry can be applied to the surface of degradable polymer coatings modified.

## Keywords

Nitric Oxide, Surface Chemistry, Blood Compatibility, PTMC

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

医用奥氏体 316L 不锈钢(SS)由于其优异的力学性能被广泛地应用于血液接触类医疗器械中[1]。而不锈钢支架在植入的过程中可能会因为损伤血管内壁以及介入材料表面的刺激,诱发血小板的粘附与激活,从而导致了血栓的形成[2]。且 316L SS 在临床中不可避免地存在一些有害离子的溶出,可能对人体产生致敏、致畸等潜在风险[3],例如不锈钢支架植入后镍离子溶出会导致镍过敏及炎性反应,从而增加支架植入后再狭窄的风险[4] [5]。因此,阻隔有害离子的溶出以及抗凝血活性分子的引入成为优化其生物相容性的关键。

聚三亚甲基碳酸酯(PTMC)是目前研究较多的一种可生物降解脂肪族聚碳酸酯材料,具有表面溶蚀的降解特点,且降解产物没有酸性,生物相容性良好,使其作为药物洗脱支架载药涂层具有较大的潜力[6]。

且 PTMC 有良好的柔韧性与弹性, 这使其可以均匀地覆盖在材料的表面, 起到阻隔植入材料与血液接触的作用, 但 PTMC 没有抑制血小板的粘附与激活的作用, 这可能会导致血栓的形成。

一氧化氮(NO)是内皮细胞分泌的一种十分重要的信号分子[7]。具有优异的抗凝血功能[8]。人体内的 NO 供体(GSNO)被一氧化氮合酶(NOS)催化后产生 NO, 增加了血小板中环鸟磷酸苷 cGMP 水平而降低激活血小板所需的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 从而抑制血小板的粘附与激活。近年来研究者通过在材料表面构建 NO 释放/催化型涂层来提高其血液相容性。

有机硒和  $\text{Cu}^{2+}$  催化内源性 NO 供体 RSNO 释放 NO 一直是 NO 催化领域的重要的策略[9]。本研究基于金属-酚(胺)表面化学改性方法提出了一种新型的 NO 催化策略, 利用没食子酸(GA)和硒代胱胺(SeCA)共价结合形成网络结构, 再以  $\text{Cu}^{2+}$  作为交联剂将上述网络结构交联, 在 PTMC 涂层上形成具有催化释放 NO 功能的类仿生涂层, 以共价结合协同配位作用的方式形成的涂层, 结构相对稳定, 同时利用两种催化单元, 也使得这种涂层的 NO 催化方式较为可控。

## 2. 实验部分

### 2.1. 实验材料

实验所用试剂: 没食子酸(GA, Sigma); 硒代胱胺(SeCA, Sigma); 氯化铜( $\text{CuCl}_2$ , Sigma); 聚三亚甲基碳酸酯(PTMC10 万分子量, 济南岱罡生工程有限公司); 四氢呋喃(纯度  $\geq 99.0\%$ , 阿拉丁); 氢氧化钠( $\text{NaOH}$ , Sigma); 新鲜全血(购于成都市血液中心); cGMP ELISA 试剂盒(上海沪峰生物科技有限公司, 中国)。

实验所用仪器: 美国凯美特公司型号为 KW-4A 旋涂机; 德国 Kruss 公司的型号为 DSAeco Plus 的水接触角检测仪; 美国 Thermo Fisher Scientific 公司的型号为 XSAM800 的 X-射线光电子能谱仪; 美国 GE analytical 公司的型号为 NOA 280i 的 NO 分析仪; 日本电子株式会社型号为 JSM-7800F 的扫描电子显微镜。

### 2.2. 各类涂层的制备

涂层制备过程如图 1 所示, 通过旋涂的方法将 PTMC 旋涂在 316L SS 表面, 为体系提供 PTMC 基底, 再采用“一步浸涂法”在 PTMC 涂层表面沉积一层  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层, 起到催化释放一氧化氮的功能。

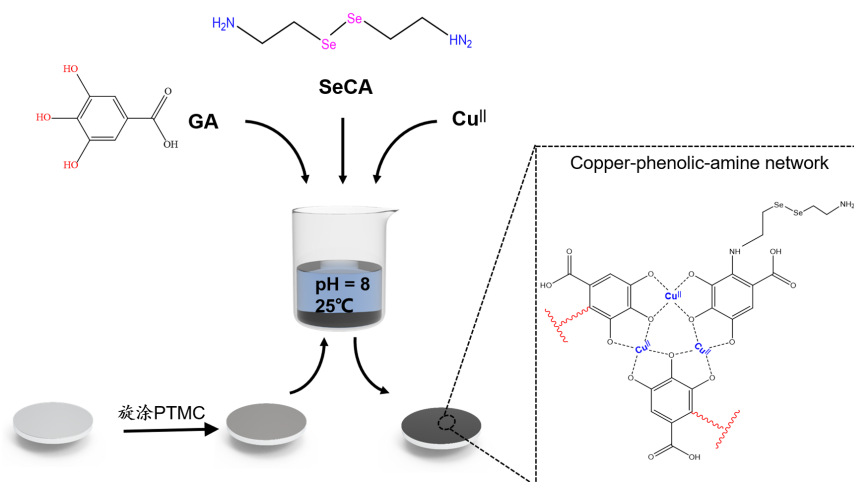


Figure 1. The schematic diagram of preparation different coatings

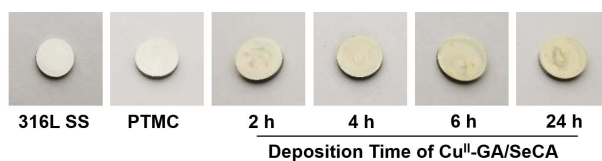
图 1. 各涂层制备过程示意图

### 2.2.1. PTMC 涂层的制备

用去离子水反复多次清洗直径为 1 cm 的 316L SS 圆片，后用氮气吹干，置于 80℃ 烘箱中干燥备用。将 PTMC(平均分子量 10 万)溶解于四氢呋喃溶剂中，配置浓度为 2 mg/mL 的 PTMC 溶液。采用美国凯美特公司型号为 KW-4A 的旋涂机，在 316L SS 圆片表面滴加 20  $\mu$ L 的 PTMC 溶液开始旋涂，转速及时间为前转 500 r/min、5 s，后转 1500 r/min、25 s。旋涂后的样品置于真空干燥箱干燥 48 h。

### 2.2.2. Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层的制备

本涂层采用一步浸涂法制备，将 GA (2 mg/mL)，SeCA (3.2 mg/mL)溶解到 Tris-Base (1.21 mg/mL)缓冲液中，待完全溶解后加入 CuCl<sub>2</sub> (32  $\mu$ g/mL)，用 NaOH 溶液将上述混合溶液的 pH 值调至 8，将 2.2.1 中制备完成的样品全部浸没在混合溶液中，分别在 25℃ 的孵箱中静置 2 h、4 h、6 h、24 h 后取出，超声清洗除去表面结合不牢靠的聚合物即可得到 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层。图 2 为 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层沉积不同时间后的颜色变化。随着沉积时间的增加，其表面颜色逐渐加深，沉积 6 h 和沉积 24 h 的 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层的样品的颜色区别不明显。



**Figure 2.** Color change of 316L SS, PTMC coating and Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA coatings deposited on PTMC coating for different time

**图 2.** 316L 不锈钢、PTMC 涂层及在 PTMC 涂层上沉积 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层后的颜色变化

## 2.3. 材料学表征

### 2.3.1. 水接触角

采用德国 Kruss 公司的型号为 DSAeco Plus 的水接触角检测仪检测 316L SS、PTMC 涂层以及在 PTMC 基底上沉积不同时间的 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层的亲疏水性。

### 2.3.2. X 射线光电子能谱

采用美国 Thermo Fisher Scientific 公司的型号为 XSAM800 的 X 射线光电子能谱仪测定样品表面的化学组成，激发光源为 Al K $\alpha$  (1486.6 eV)，荷电位移校正 C1s = 284.5 eV。

## 2.4. NO 催化释放速率及稳定性检测

采用美国 GE analytical 公司的型号为 NOA 280i 的 NO 分析仪检测在 PTMC 基底上沉积不同时间的 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层的 NO 释放速率，并对沉积 6 h Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层的样品进行 NO 催化释放稳定性的研究。向反应室内加入 5 mL 的 PBS 溶液(含 30  $\mu$ mol/mL 的 GSH 和 SNAP)，待基线跑平后放入样品，待曲线不再变化后终止实验，记录 NO 的催化释放速率。再将样品置于 NO 供体溶液中浸泡 1、3、7、15、30 天后再分别检测其 NO 释放速率。

## 2.5. 血液相容性评价

### 2.5.1. 血小板的粘附与激活

将人新鲜的静脉血液与柠檬酸钠抗凝剂按体积比 9:1 混合，1500 r/min 的转速下离心 15 min 得到富血小板浆(PRP)，将样品分为供体组(+Donor)和非供体组(-Donor)，供体组表面滴加 SNAP 和 GSH 溶液(浓度均

为 30  $\mu\text{mol/mL}$ ), 再在各样品表面滴加 200  $\mu\text{L}$  的新鲜 PRP 后放入 37 $^{\circ}\text{C}$  孵箱孵育 30 min, 再用生理盐水漂洗三次后用 2.5% 的戊二醛溶液固定 24 h。脱水脱醇喷金后, 采用在日本电子株式会社型号为 JSM-7800F 的扫描电子显微镜对样品表面的血小板形貌及数量进行观察。

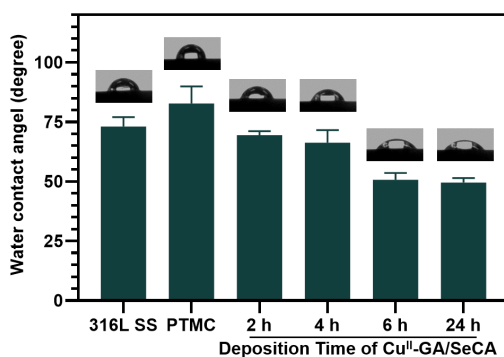
### 2.5.2. cGMP

采用 cGMP ELISA 试剂盒定量检测血小板合成的 cGMP 的浓度。首先将样品分为供体组(+Donor)和非供体组(-Donor), 供体组表面滴加 SNAP 和 GSH 溶液(浓度均为 30  $\mu\text{mol/mL}$ ), 在表面滴加 PRP 孵化, 步骤与 2.5.1 相同, 孵化 30 min 后, 加入 100  $\mu\text{L}$  10% 的 triton-X 后超声破碎, 然后将破碎后的 PRP 混合液在 2500 r/min 的转速下离心 8 min, 分离血小板碎片, 吸取上清液用于检测 cGMP, 其中 cGMP 检测步骤参考试剂盒说明。

## 3. 结果分析

### 3.1. 水接触角结果

水接触角能将材料的亲疏水性直观的反应出来, 材料的亲水性对生物相容性有着显著的影响[10], 材料表面所具有的官能团类型与亲疏水性有着紧密的关系, 亲水性较强的官能团有羟基、氨基、醛基、羧基等, 它们会产生低的水接触角。水接触角检测结果如图 3 所示, 与 316L SS 相比, PTMC 涂层的水接触角由 73 $^{\circ}$ 增加到 82.7 $^{\circ}$ , 而在 PTMC 涂层上沉积 NO 催化释放涂层后, 各个工艺的涂层的水接触角依次为:  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}(2)$  为 69.4 $^{\circ}$ ;  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}(4)$  为 66.2 $^{\circ}$ ;  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}(6)$  为 50.7 $^{\circ}$ ;  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}(24)$  为 49.2 $^{\circ}$ 。可见涂层的亲水性依次增强, 这可能是因为  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层中的 GA 和 SeCA 含有大量的亲水官能团氨基和酚羟基, 由此可以证明涂层的沉积是成功的, 且沉积 6 h 和沉积 24 h 所得表面的亲水性没有太大差别。

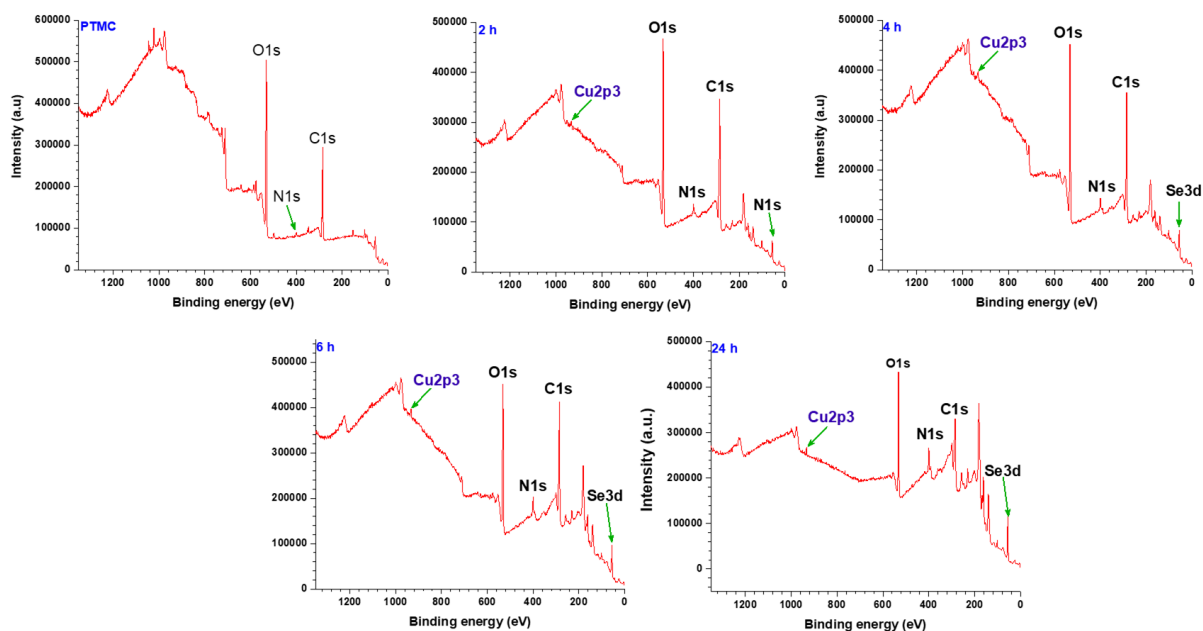


**Figure 3.** Change of water contact angle of 316L SS, PTMC coating and  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  coatings deposited on PTMC coating for different time

**图 3.** 316L 不锈钢、PTMC 涂层及在 PTMC 涂层上沉积  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层的水接触角变化情况

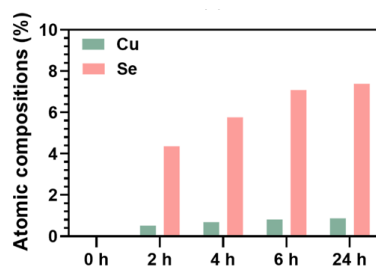
### 3.2. X 射线光电子能谱

图 4 为沉积不同时间所制备的  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层的 XPS 全谱; 图 5 为不同沉积时间的  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层表面的铜元素和硒元素的含量变化; 表 1 为沉积不同时间所制备的  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层表面各元素的比例。从 XPS 全谱中可以看出, 在沉积了  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层的样品表面均检测到了硒元素和铜元素, 进一步说明了涂层制备的成功。从表 1 可以看出, 随着沉积时间的增加, 当沉积时间达到 6 h 以后, 硒元素和铜元素的随沉积时间的增加并不明显。



**Figure 4.** XPS full spectrum of CuII-GA/SeCA coatings deposited on PTMC coating for different time

**图 4.** 在 PTMC 涂层上沉积不同时间的 CuII-GA/SeCA 涂层的 XPS 全谱图



**Figure 5.** Evolution of the copper and selenium atomic composition of the CuII-GA/SeCA coatings for different time as measured by XPS

**图 5.** 通过 XPS 测定各沉积时间的 CuII-GA/SeCA 涂层表面铜和硒元素含量变化

**Table 1.** Atomic composition of samples obtained using XPS

**表 1.** 通过 XPS 得到的各样品的原子组成

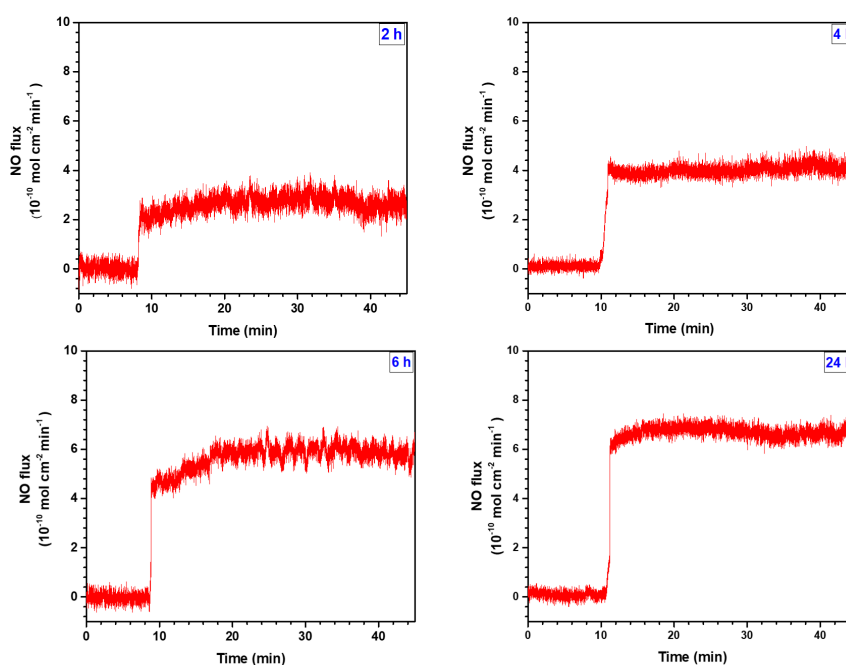
沉积时间	C (%)	N (%)	O (%)	Se (%)	Cu (%)
0 h	50.74	2.11	47.16	0	0
2 h	58.72	2.74	33.67	4.36	0.51
4 h	56.23	3.79	33.53	5.76	0.69
6 h	57.41	6.06	28.62	7.09	0.81
24 h	56.17	7.74	27.83	7.39	0.87

### 3.3. NO 催化释放速率及稳定性结果

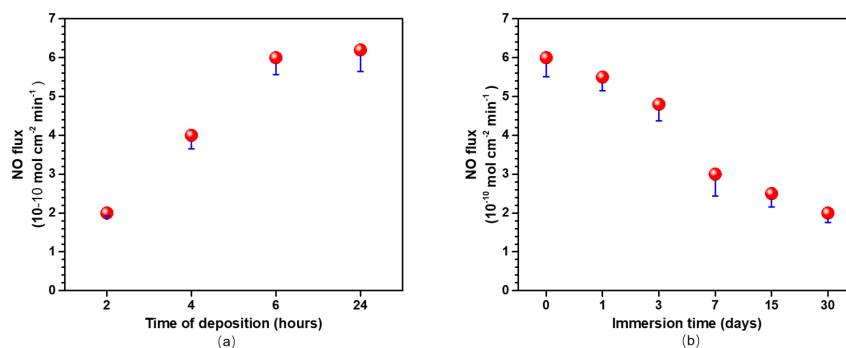
采用 NO 分析仪检测不同沉积时间的 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层 NO 催化释放能力, 并将沉积 6 h 的 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层的样品经供体溶液(30 μmol/mL 的 GSH 和 SNAP)浸泡 30 天后, 对其催化释放 NO 的能力以及稳定性的进行检测。如图 6 所示, 随着沉积时间的增加, NO 的催化释放速率均有一定程度的增加。图 7(a)是不同沉积时间的 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA 涂层 NO 催化释放速率的散点图, 其中 Cu<sup>II</sup>-GA/SeCA(2)、

$\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}(4)$ 、 $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}(6)$ 、 $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}(24)$ 四组实验样品所对应的 NO 催化释放速率分别为  $2.1$ 、 $4.3$ 、 $6.1$  和  $6.2 \times 10^{-10} \text{ mol} \times \text{cm}^{-2} \times \text{min}^{-1}$ ，可见随着沉积时间的增加，NO 的催化释放速率有一定程度的增加，但沉积 6 h 和沉积 24 h 的  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层的 NO 催化释放速率差别不大，推测其在 6 h 后涂层沉积速率并无明显变化，且 NO 释放速率也没有显著的差别，因此选择沉积 6 h 后的涂层进行稳定性测试实验。

沉积 6 h  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层的实验样品所对应的 NO 催化释放速率随浸泡时间变化的情况如图 7(b) 所示，从图中可以看出，浸泡时间分别为 0、1、3、7、15、30 天时所对应的 NO 催化释放速率分别为： $6.1$ 、 $5.5$ 、 $4.8$ 、 $3$ 、 $2.3$ 、 $2 \times 10^{-10} \text{ mol} \times \text{cm}^{-2} \times \text{min}^{-1}$ ，实验样品随着浸泡时间的增加，其 NO 的催化速率值逐渐降低，浸泡 30 天后，其 NO 的催化释放速率仍可以达到  $2 \times 10^{-10} \text{ mol} \times \text{cm}^{-2} \times \text{min}^{-1}$  左右，这说明  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层的稳定性良好，可以满足例如血管支架在治疗心血管疾病时的临床需要。



**Figure 6.** The curve of nitric oxide release before and after the addition of  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  samples in each group  
**图 6.** 各组  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  样品添加前后的一氧化氮释放变化曲线图



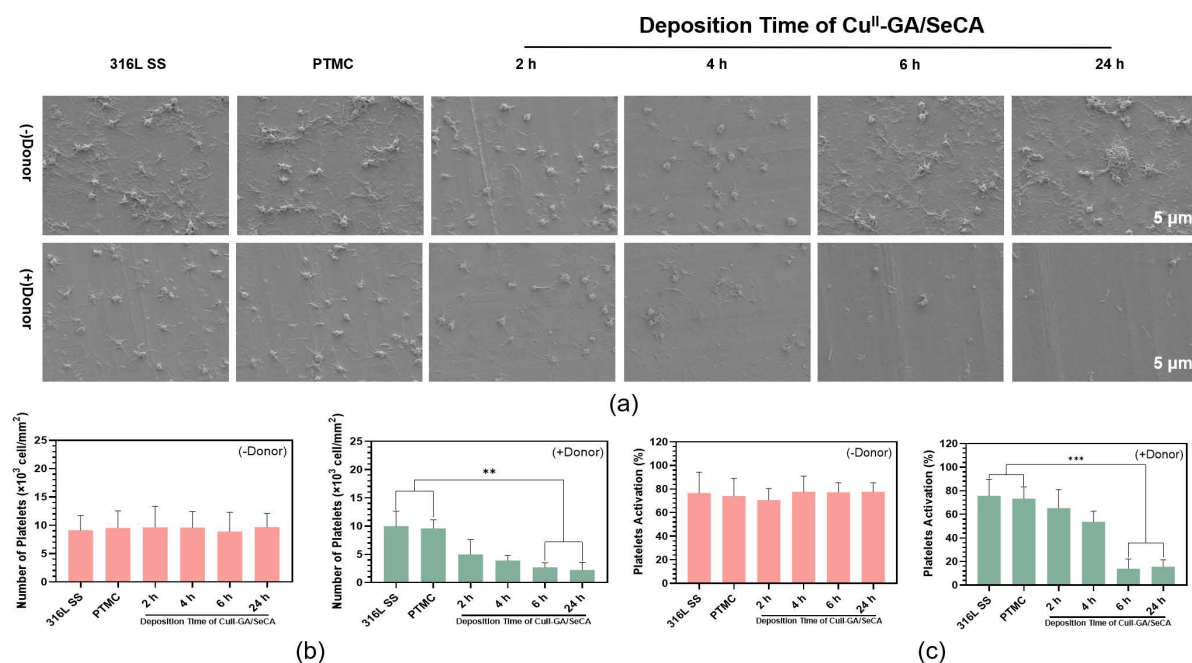
**Figure 7.** (a) Scatter plot of the catalytic release rate of nitric oxide in  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  coatings with different deposition times; (b) Stability of nitric oxide catalytic release rate of  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  Coatings Deposited for 6 Hours

**图 7.** (a) 不同沉积时间的  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层一氧化氮催化释放速率散点图；(b) 沉积 6 h 的  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-GA/SeCA}$  涂层一氧化氮催化释放速率的稳定性

### 3.4. 血小板的粘附与激活结果

图 8(a)是血管中最重要的功能细胞血小板[11]在样品表面的粘附与激活的 SEM 结果图, 未添加供体 SNAP/GSH 的 316L SS、PTMC 涂层以及  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层的表面均粘附了大量的血小板, 且血小板处于完全铺展的高度激活状态。而当引入供体 SNAP/GSH 后,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层表面的血小板粘附的数量有所减少, 且粘附的血小板为未被激活的圆球形静息状态, 说明  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层通过催化释放 NO 成功的抑制了血小板的粘附与激活, 而 316L SS 和 PTMC 涂层表面的血小板的粘附与激活的程度并未因 NO 供体的引入而出现明显的变化, 说明 NO 供体微弱的自释放不会对血小板的生理状态产生较大的影响。

血小板统计结果如图 8(b)所示, 非供体组样品表面的血小板粘附的数量并无明显的区别, 密度约为  $1 \times 10^4$  个/平方毫米, 而当加入供体后, 316L SS 和 PTMC 涂层表面的血小板数量无明显变化, 但  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层随着涂层沉积时间的增加, 血小板粘附的数量逐渐减少, 且沉积 6 h 和 24 h 的  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层表面粘附的血小板的密度均约为  $3 \times 10^3$  个/平方毫米, 均可以有效的抑制血小板的粘附。血小板的激活率如图 8(c)所示。以上结果表明了  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层具有优异的抗血小板粘附与激活的性能。



**Figure 8.** (a) The morphology of platelets on the surface of 316L SS, PTMC coating and  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA coatings deposited for different time; (b) Adhesive number of platelets on the surface of 316L SS, PTMC coating and  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA coatings with different deposition time; (c) Platelet activation rate of 316L SS, PTMC coating and  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA coatings surface at different deposition times

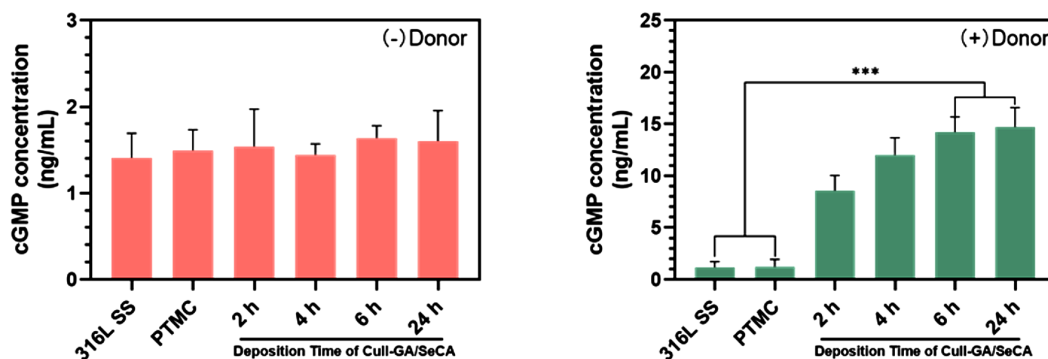
图 8. (a) 316L SS、PTMC 涂层和沉积不同时间的  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层表面血小板的形貌; (b) 316L SS、PTMC 涂层和沉积不同时间的  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层表面血小板的粘附数量; (c) 316L SS、PTMC 涂层和沉积不同时间的  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层表面血小板激活率

### 3.5. cGMP 检测结果

NO 可以通过 cGMP 通路来调控血小板中的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 从而来调节血小板的粘附与激活, 为了验证  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层对血小板的作用是通过 NO 对血小板 cGMP 通路的调控而引起的, 本文对血小板的 cGMP 的含量进行了检测, 结果如图 9 所示, 在  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层和供体 SNAP/GSH 的作用下, NO 进



入了血液并和血小板作用使其 cGMP 的含量上升, 进而引起上述抑制作用。且沉积 6 h 和 24 h 的  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层上的血小板的 cGMP 含量相差不大。由此得出结论,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层可以和供体 SNAP/GSH 作用释放 NO, 并通过 cGMP 通路来调节血小板的粘附与激活。



**Figure 9.** Platelet cGMP synthesis concentration on the surface of 316L SS, PTMC coating and  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA coatings for different times

**图 9.** 血小板在 316L SS、PTMC 涂层和沉积不同时间的  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层表面 cGMP 合成浓度

#### 4. 结论

在 316L SS 上成功地制备了 PTMC 涂层后, 又在 PTMC 涂层上成功地制备了  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层, 实现了在生理条件释放 NO, 进而提升了材料表面的血液相容性, 具有优异的抗血小板粘附与激活的性能, 从而显著地提高了材料表面的生物相容性, 实现了基于 PTMC 基底的具有一氧化氮催化释放功能的类仿生涂层制备构建。沉积 6 h 和 24 h 的  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层无论是在 NO 催化释放速率, 还是抗血小板的粘附与激活的能力上都没有显著性差异, 这为  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -GA/SeCA 涂层的快速沉积提供了数据的支持, 在可降解血液接触类材料的表面改性上具有一定的应用前景。

#### 致 谢

本研究由国家自然科学基金项目(Project 82072072)支持。

#### 参考文献

- [1] Bergmann, M.W. and Landmesser, U. (2014) Left Atrial Appendage Closure for Stroke Prevention in Non-Valvular Atrial Fibrillation: Rationale, Devices in Clinical Development and Insights into Implantation Techniques. *EuroIntervention*, **10**, 497-504. <https://doi.org/10.4244/EIJV10I4A86>
- [2] Sanchez, J., Elgue, G., Riesenfeld, J. and Olsson, P. (1997) Inhibition of the Plasma Contact Activation System of Immobilized Heparin: Relation to Surface Density of Functional Antithrombin Binding Sites. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of the Society for Biomaterials and the Japanese Society for Biomaterials*, **37**, 37-42. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199710\)37:1<37::AID-JBM5>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199710)37:1<37::AID-JBM5>3.0.CO;2-K)
- [3] 陈姗姗, 张炳春, 杨柯. 医用无镍不锈钢在血管支架领域的研究进展[J]. *中国医疗设备*, 2018, 33(5): 14-17.
- [4] Costa, M., Yan, Y., Zhao, D. and Salnikow, K. (2003) Molecular Mechanisms of Nickel Carcinogenesis: Gene Silencing by Nickel Delivery to the Nucleus and Gene Activation/Inactivation by Nickel-Induced Cell Signaling. *Journal of Environmental Monitoring JEM*, **5**, 222-223. <https://doi.org/10.1039/b210260a>
- [5] Thomas, P., Braathen, L.R., Drig, M., Aubck, J. and Willert, H.G. (2010) Increased Metal Allergy in Patients with Failed Metal-on-Metal Hip Arthroplasty and Peri-Implant T-Lymphocytic Inflammation. *Allergy*, **64**, 1157-1165. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.01966.x>
- [6] Wang, J., He, Y., Maitz, M.F., Collins, B., Xiong, K., Guo, L. and Huang, N. (2013) A Surface-Eroding Poly(1,3-Trimethylene Carbonate) Coating for Fully Biodegradable Magnesium-Based Stent Applications: Toward Better Biofunction, Biodegradation and Biocompatibility. *Acta Biomaterialia*, **9**, 8678-8689.

- <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.02.041>
- [7] Lee, S.J., Lee, D., Yoon, T.R., Kim, H.K., Jo, H.H., Park, J.S. and Park, S.A. (2016) Surface Modification of 3D-Printed Porous Scaffolds via Mussel-Inspired Polydopamine and Effective Immobilization of rhBMP-2 to Promote Osteogenic Differentiation for Bone Tissue Engineering. *Acta Biomaterialia*, **40**, 182-191. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.02.006>
- [8] De Mel, A., Murad, F. and Seifalian, A.M. (2011) Nitric Oxide: A Guardian for Vascular Grafts? *Chemical Reviews*, **111**, 5742-5767. <https://doi.org/10.1021/cr200008n>
- [9] Carpenter, A.W. and Schoenfisch, M.H. (2012) Nitric Oxide Release Part II. Therapeutic Applications. *Chemical Society Reviews*, **41**, 3742-3752. <https://doi.org/10.1039/c2cs15273h>
- [10] Cai, K., Frant, M., Bossert, J.R., Hildebrand, G., Liefeth, K. and Jandt, K.D. (2006) Surface Functionalized Titanium Thin Films: Zeta-Potential, Protein Adsorption and Cell Proliferation. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces*, **50**, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2006.03.016>
- [11] Liu, T., Liu, Y., Chen, Y., Liu, S., Maitz, M.F., Wang, X. and Chen, J. (2014) Immobilization of Heparin/Poly-L-Lysine Nanoparticles on Dopamine-Coated Surface to Create a Heparin Density Gradient for Selective Direction of Platelet and Vascular Cells Behavior. *Acta Biomaterialia*, **10**, 1940-1954. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.013>